

ABSTRACT

The cultivation practice of pineapple plant through tissue culture method has led to numerous abnormalities such as dwarfism, small fruit and small crown which are not suitable for commercialisation. Morphological description as early intervention has resulted in the loss of energy, time and money since the indicator relies upon morphology changes posed by the individual plant. Despite enormous research studies on DNA based molecular markers to detect genetic variation among plants, there were no study has been done on genetic fidelity study among micropropagated MD2 pineapple plants using DNA based molecular markers. Thus, this study aimed to assess genetic variation among clonally raised MD2 pineapple plants using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) and Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) molecular markers. A total of 22 genomic DNA amplified using six RAPD and six anchored ISSR markers. RAPD markers generated a total of 120 bands with 93% polymorphism percentage whereas the ISSR markers generated a total of 93 bands with 73% polymorphism percentage. Evaluation through resolving power (R_p), polymorphism information content (PIC) and marker index (MI) showed RAPD markers ($R_p = 7.08$; $PIC = 0.34$; $MI = 1.72$) are more informative compared to ISSR markers ($R_p = 4.17$; $PIC = 0.32$; $MI = 1.00$). Clustering analyses using Principal Component Analysis (PCA) and Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) resulted in the indefinite clustering patterns while the dendrograms revealed the inability of the markers to correlate the plant morphology with their genetic structure. AMOVA analysis found high genetic variation within groups of pineapple with variation percentage $>70\%$ and Phi statistic estimated wide genetic variation among the studied genotypes. In general, the RAPD and ISSR markers revealed that the plant's morphology did not evitably correlate to its genetic structure. The results obtained are closely related with the genome coverage and the loci number detected

by the molecular markers. This study may form the basis for MD2 breeding program and exploring other molecular markers that can potentially corresponds to the phenotypic polymorphisms.

Keywords: ISSR, MD2 pineapple, RAPD, somaclonal variation, tissue culture

Penilaian Keberkesanan Penanda Molekul RAPD dan ISSR Untuk Analisa Variasi Genetik Antara Klon Nanas MD2 (Ananas comosus var MD2)

ABSTRAK

Penanaman tanaman nanas melalui kultur tisus sering menghasilkan tumbuhan abnormal seperti saiz tanaman kerdil, buah dan jambul yang kecil di mana ciri morfologi tersebut tidak sesuai untuk tujuan komersial. Penggunaan ciri morfologi sebagai intervensi awal untuk pengesanan tumbuhan tidak normal tidak sesuai kerana kebergantungan penanda tersebut pada perubahan morfologi individu tanaman. Walaupun terdapat banyak penyelidikan menggunakan penanda berasaskan DNA untuk proses penilaian variasi genetik di antara tumbuhan bagaimanapun, tidak ada kajian dijalankan untuk menilai variasi genetik ke atas tanaman nanas MD2 yang dihasilkan melalui kultur tisus. Kajian ini dijalankan bertujuan untuk menilai variasi genetik diantara klon tanaman nanas MD2 menggunakan penanda molekul amplifikasi pantas DNA polimorfik (RAPD) dan urutan antara jujukan ringkas (ISSR). Sebanyak 22 genomik DNA telah diamplifikasikan menggunakan enam penanda molekul RAPD and enam penanda molekul ISSR bersaiz telah menghasilkan sejumlah 213 jalur dengan peratusan polimorfisme sebanyak 93% manakala penanda molekul ISSR menghasilkan 93 jalur dengan peratusan polimorfisme sebanyak 73%. Penilaian penanda molekul melalui daya penyelesaian (R_p), kandungan maklumat polimorfisme (PIC) dan indeks penanda (MI) menunjukkan penanda RAPD ($R_p = 7.08$; $PIC = 0.32$; $MI = 1.72$) lebih bermaklumat/diskriminatif berbanding penanda molekul ISSR ($R_p = 4.17$; $PIC = 0.32$; $MI = 1.00$). Analisis kluster menggunakan analisis komponen prinsipal (PCA) dan Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) menghasilkan corak pengelompokan yang tidak menentu sementara dendrogram menunjukkan ketidakupayaan penanda molekul untuk mengaitkan morfologi tumbuhan dengan struktur

genetik tumbuhan. Analisis melalui AMOVA pula mendapati variasi genetik yang tinggi dalam kumpulan nanas dengan peratusan variasi sebanyak >70% dan statistik Phi menganggarkan variasi genetik yang luas di antara genotip nanas yang dikaji. Secara umum, keputusan yang diperoleh amat berkait rapat dengan liputan genom dan bilangan lokus yang dikesan oleh penanda molekul. Selain daripada itu, morfologi tumbuhan tidak seharusnya berkorelasi dengan struktur genetik. Sehubungan itu, kajian ini boleh dijadikan sebagai asas bagi program pembiakan nanas MD2.

Kata kunci: *ISSR, kultur tisu, nanas MD2, RAPD, variasi somaklonal*